

Elaboração de uma bebida probiótica fermentada a partir de extrato hidrossolúvel de soja com sabor de frutas

The making of a probiotical fermented drink from soybean water soluble extract with fruit flavor

Milene Oliveira Pereira¹

Marlene Bampi²

Flávio Thihara Rodrigues³

Osmar Roberto Dalla Santa⁴

Herta Stutz Dalla Santa⁵

Maurício Rigo⁶

Resumo

O extrato hidrossolúvel de soja possui características químicas e nutricionais que o qualificam como um alimento funcional, mas tem pouca aceitabilidade entre os consumidores, pois apresenta gosto de feijão cru. O objetivo deste trabalho foi elaborar uma bebida a partir da fermentação do extrato hidrossolúvel de soja por culturas probióticas, com adição de polpa e essência de frutas e verificar sua aceitabilidade. O número de colônias viáveis de bactérias lácticas na bebida fermentada armazenada a 5° C durante 21 dias foi superior a 10⁷ UFC/mL, valores que estão de acordo com o exigido pela legislação vigente para produtos probióticos. As bebidas fermentadas com sabor de abacaxi e limão obtiveram aceitação significativamente maior pelos julgadores nos testes

1 Graduanda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO; E-mail: engmarlene@hotmail.com

2 Graduanda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO; E-mail: milene_mop@hotmail.com

3 Graduando em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO; E-mail: flaviothihara@hotmail.com

4 Dr.; Biólogo; Professor do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, E-mail: ordallasanta@yahoo.com.br.

5 Dra.; Bióloga; Professora do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, E-mail: hdalsanta@yahoo.com.br.

6 Dr.; Engenheiro de Alimentos; Professor do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO; E-mail: mauriciorigo@yahoo.com.br.

sensoriais, se comparado ao sabor de ameixa preta. Os resultados deste estudo demonstraram que o extrato hidrossolúvel de soja com 2% de sacarose possibilitou o cultivo de bactérias lácticas para obtenção de uma bebida próbiótica, e adição de frutas no produto propiciou um incremento na qualidade sensorial com boa aceitação pelo consumidor.

Palavras-chave: extrato hidrossolúvel de soja; bebida fermentada; bactérias lácticas.

Abstract

The soy bean water soluble extract has chemical and nutritional characteristics that qualify it as a functional food; however, it has little acceptability amongst the consumers because it tastes like raw beans. The objective of our research has been to produce a drink from the fermented water soluble soy extract by means of probiotical cultures, with the addition of fruit pulps and essences, so as to verify its acceptability. The amount of viable lactic bacteria cells in the fermented drink stored at 5° C during 21 days was greater than 107UFC/mL. The values are consistent with those established by the current Brazilian law for probiotical products. When compared with the black plum flavor, the fermented drinks with pineapple and lemon flavors had significantly better acceptability for the subjects in the sensorial tests. The results of this study have demonstrated that the water soluble soybean extract with 2% of saccharose allowed for the culture of lactic bacteria for the making of a probiotical drink, and the addition of fruits to the product improved the sensorial quality with good acceptance by the consumer.

Key words: water soluble soybean extract; fermented drink; lactic acid bacteria.

Introdução

O interesse por produtos alimentícios saudáveis e nutritivos tem aumentado mundialmente. O uso dos alimentos como promoção do bem-estar e saúde e, ao mesmo tempo, como redutor dos riscos de algumas doenças, tem incentivado as pesquisas de novos componentes naturais e o desenvolvimento de novos ingredientes, possibilitando a inovação em produtos

alimentícios e a criação de novos nichos de mercado (MATSUBARA, 2001).

As proteínas de origem animal são consideradas de melhor qualidade do que as de origem vegetal porque apresentam um melhor balanço de aminoácidos essenciais. Entretanto, a proteína de soja é muito parecida à proteína de origem animal e pode ser considerada, dentre as proteínas vegetais, como a de melhor qualidade, possuindo cerca de

90% de digestibilidade (ZANGELMI et al., 1982; MORAIS e SILVA, 1996).

Dentre os produtos de origem vegetal com potencial no desenvolvimento de novas bebidas destaca-se o extrato hidrossolúvel de soja, popularmente denominado de leite de soja, devido as suas características químicas e nutricionais que o qualificam como um alimento funcional. Além da qualidade de sua proteína, a soja e seus derivados podem ser utilizados de forma preventiva e terapêutica no tratamento de doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose e sintomas da menopausa (HASLER, 1998).

A aceitabilidade do extrato hidrossolúvel de soja pelo consumidor é limitada por apresentar características sensoriais semelhantes às do feijão cru, devido a compostos voláteis de baixo peso molecular que são produtos da ação das lipoxigenases, que por sua vez, podem ser inativadas através de tratamento térmico adequado. Além disso, o extrato apresenta um *flavor* desfavorável e um alto teor de oligossacarídeos como a rafinose e estaquiose, responsáveis pelos fatores de flatulência que limitam o consumo da soja (RIBEIRO et al., 1987; HOU et al., 2000). Por outro lado, por serem indigeríveis pelo homem, estes oligossacarídeos exercem função muito importante no organismo, pois estimulam e promovem o crescimento de microrganismos probióticos, como as bifidobactérias, e por isso são considerados prebióticos (HOU et al., 2000; TAMIME et al., 1995; SCALABRINI et al., 1998).

A fermentação tem sido uma técnica muito empregada para desenvolver produtos derivados de soja, neste sentido o extrato hidrossolúvel de soja é empregado

como meio de crescimento e de atividade bioquímica de várias bactérias lácticas na produção de queijo de soja e diversos tipos de bebidas fermentadas (CHOU e HOU, 2000). Da mesma forma, do ponto de vista tecnológico, a qualidade sensorial do extrato hidrossolúvel de soja pode ser melhorada através da fermentação dos carboidratos presentes por bactérias lácteas a ácido lático, o que dá um sabor refrescante à bebida, mascarando o sabor classificado como de “feijão cru” característico do extrato (MORAES et al., 2006).

Entretanto, o baixo teor de carboidratos fermentáveis na soja limita o uso do extrato hidrossolúvel de soja como um substrato para o crescimento de culturas lácticas, sendo necessária a adição de glicose, sacarose ou até mesmo lactose para tornar o extrato adequado à fermentação (SCALABRINI et al., 1998). Dentre as principais bactérias lácticas utilizadas para a fermentação do extrato hidrossolúvel de soja estão *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *Bifidobacterium lactis* e *Streptococcus thermophilus*. A presença viva destes microrganismos em alimentos produz efeitos benéficos ao organismo humano, e por isso são denominados de probióticos (TAMIMI et al., 1995).

Neste escopo, o presente trabalho teve por objetivo elaborar uma bebida fermentada por bactérias lácticas a partir do extrato hidrossolúvel de soja, com adição de polpa de frutas e avaliar sua aceitabilidade.

Material e Métodos

Obtenção do extrato hidrossolúvel de soja

A soja utilizada para obtenção do extrato hidrossolúvel foi da variedade

BRS - 232, doada pelo Departamento de Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste. O extrato hidrossolúvel de soja foi preparado seguindo o método descrito pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2002).

Preparo do inóculo

Na produção da bebida fermentada foi utilizada uma mistura liofilizada de três tipos de bactérias lácticas, constituídas de *L. casei*, *Streptococcus thermophilus* e *L. bulgaricus* doados pela Rhodia, Inc. Dairy Business. O inóculo foi preparado realizando-se duas pré-fermentações em meio de cultura contendo 11% de leite em pó desnatado (Ninho - NESTLÉ) e 3,5% de extrato de levedura (DIFCO) (esterilizado a 110°C/10 min). A primeira pré-fermentação foi feita com 0,01% (p/v) de cultura mista liofilizada de bactérias lácticas, que foram incubadas a 40°C/5 h (Logen Scientific). Na segunda pré-fermentação, foram adicionados 5% do inóculo obtido da primeira pré-fermentação anterior em Erlenmeyer contendo o meio de cultura, o qual foi incubado a 40°C/8 h. Este último meio fermentado foi utilizado como inóculo para fermentar o extrato hidrossolúvel de soja.

Fermentação do extrato hidrossolúvel de soja e preparo das bebidas sabor limão, abacaxi e ameixa

A fermentação do extrato hidrossolúvel de soja seguiu o processamento descrito na figura 1. Devido à baixa concentração de carboidratos no extrato hidrossolúvel de soja, foram adicionados 2% (p/v) de sacarose no produto com o objetivo de servir como substrato para as bactérias lácticas. A concentração de

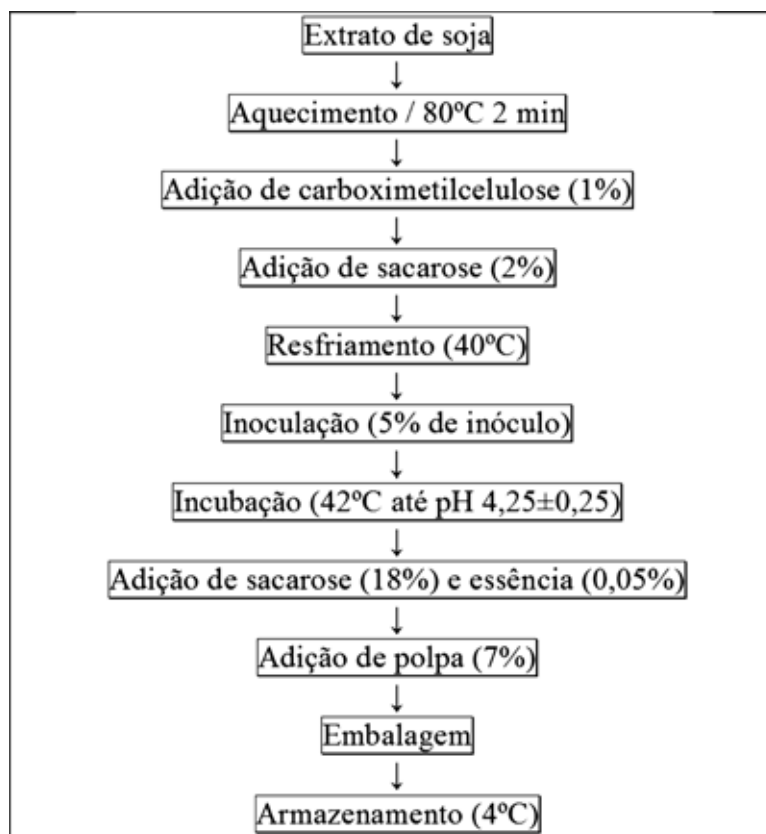
2% de sacarose foi adicionada de acordo com os dados da literatura relacionados à fermentação de extrato hidrossolúvel de soja (MITAL e STEINKRAUS, 1974; SHELEF et al., 1988). A partir do extrato hidrossolúvel de soja fermentado foram elaboradas bebidas de três diferentes sabores: limão, abacaxi (sabores incomuns em bebidas fermentadas no mercado nacional) e ameixa.

Monitoramento do pH durante o processo fermentativo

O processo de fermentação foi feito em estufa (Logen Scientific) sem ventilação, mantida a temperatura constante. Alíquotas das bebidas foram retiradas para determinação do pH em intervalos de uma hora. As medidas de pH foram feitas em duplicata utilizando pHmetro digital Requipal RQ – 210. A fermentação da bebida ocorreu até o pH do meio atingir valores de 4,25 ($\pm 0,25$). Este intervalo de pH foi determinado considerando as características sensoriais e de conservação do produto. O monitoramento do pH foi realizado com intervalos de uma hora.

Análises físico-químicas do extrato e das bebidas fermentadas

A composição básica do extrato hidrossolúvel e das bebidas fermentadas de abacaxi e limão foi determinada segundo as metodologias descritas na AOAC (1995): o teor de umidade por dessecação em estufa a 105°C; cinzas (resíduo mineral fixo) por incineração do material em forno tipo mufla a 500°C; proteína bruta pelo método de Kjeldhal e multiplicado pelo fator de 6,25; e fibra total (alimentar). Os lipídeos totais foram

Figura 1. Fluxograma da obtenção das bebidas do fermentado de extrato hidrossolúvel de soja

Fonte: Os autores

quantificados pelo método de *BLIGH e DYER* (1959). Os carboidratos foram calculados por diferença (AOAC, 1995). As análises foram feitas em duplicata.

A acidez titulável foi determinada em alíquotas de 10 mL de amostra por meio de titulação com solução de hidróxido de sódio 0,111 N (solução Dornic) na presença do indicador fenolftaleína, a resposta foi expressa em gramas de ácido láctico / 100 mL de amostra (TRONCO 1997).

Contagem de bactérias lácticas

A contagem total de bactérias lácticas foi realizada no extrato hidrossolúvel de

soja fermentado sem a adição de polpas e/ou essência nos tempos 0, 2, 4, 6, 8, 10, 14 e 21 dias de armazenamento a 5°C. Da amostra, foi retirado, assepticamente, alíquota de 1 mL e transferida para um frasco de diluição contendo 9 mL de água peptonada estéril. A partir dessa diluição, foram feitas as diluições subsequentes necessárias à análise do produto.

A quantidade total de bactérias lácticas no extrato hidrossolúvel foi determinada pela contagem em placas, em ágar De Man, Rogosa e Sharpe (DIFCO) utilizando a técnica de semeadura em profundidade (*pour-plate*) com adição de sobrecamada. Após inoculação, as

placas foram incubadas em estufa para cultura bacteriológica Logen Scientific ECB – 1.1 à temperatura de 37° por 48 horas, sendo a contagem realizada em contador de colônias manual Phoenix CP – 602 (SILVA et al., 1997).

Avaliação sensorial das bebidas obtidas a partir do extrato hidrossolúvel de soja fermentado por bactérias lácticas

No extrato de soja fermentado, (100 mL) foi adicionado polpa (7 mL) nos seguintes sabores: abacaxi, ameixa preta e limão e aroma saborizante comercial nas respectivas essências (0,5 mL) (Duas Rodas Industrial). Os sabores foram escolhidos seguindo os critérios: i) sabores incomuns em bebida fermentada no mercado nacional: limão e abacaxi; e ii) sabor de fruta comum em bebida fermentada: ameixa preta. Estas bebidas foram avaliadas sensorialmente por 41 julgadores não treinados recrutados entre alunos e professores, da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Campus CEDETEG. Os testes foram conduzidos em cabines individuais. As bebidas de soja saborizadas foram servidas geladas ($7\pm 2^{\circ}\text{C}$), em copos de plástico com cerca de 15 mL de cada amostra, codificados com números de três dígitos. A ordem de apresentação das bebidas de soja para cada provador foi aleatorizada. Para estudar a aceitação das bebidas saborizadas foi usada a escala hedônica de sete pontos (1 - desgostei muito; 2 - desgostei moderadamente; 3 - desgostei ligeiramente; 4 - nem gostei/nem desgostei; 5 - gostei ligeiramente; 6 - gostei moderadamente; 7 - gostei muito) (DUTCOSKY, 1996). Água mineral à

temperatura ambiente foi disponibilizada para os consumidores para efetuar a limpeza do palato entre uma amostra e outra.

Análise estatística

Para a organização e validação dos dados experimentais das análises sensoriais, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a diferença mínima significativa entre as amostras foi determinada pelo teste de Tukey e o nível de significância utilizado foi 5%.

Resultados e Discussão

Composição química do extrato hidrossolúvel de soja

A composição química do extrato hidrossolúvel de soja está descrita na tabela 1. Os valores médios para a umidade foram de 91,33%, próximo ao encontrado por Jackson et al. (2001), de 90,8%. Segundo Bowles e Demiate (2006), que encontraram umidade média de 94,2% em seus experimentos, valores menores na umidade são resultantes de melhores taxas de extração no processo de preparo do extrato hidrossolúvel.

Tabela 1. Composição centesimal do extrato hidrossolúvel de soja

| Componentes | Quantidade (g/100g em base seca) |
|-------------------------|----------------------------------|
| Cinzas | 6,34 |
| Proteína bruta | 45,67 |
| Gordura total | 29,41 |
| Fibra total (alimentar) | 13,61 |
| Carboidratos totais | 4,96 |

Fonte: Os autores

No presente trabalho, a porcentagem média dos componentes encontrados em base seca foi de 45,67% de proteínas, 29,41% de lipídios, 6,34% de cinzas, que são superiores aos encontrados por Bowles e Demiate (2006): de 33,0% para as proteínas, 17,77% para os componentes lipídicos, 2,2% para os minerais. Entretanto, esses resultados estão mais próximos aos relatados por Jackson et al. (2006) de 39,0% para as proteínas, 21,7% para os componentes lipídicos e 5,4% para os minerais. A diferença entre os resultados pode ser relacionada com a taxa e formas de extração e que resulta diretamente na concentração dos compostos contidos no extrato (BOWLES e DEMIATE, 2006). Outro fator que influencia na concentração dos componentes presentes no extrato é a variedade de soja, segundo constado por Ciabotti et al. (2007), que em suas pesquisas com variedades encontraram variações nos valores para proteínas de 52 a 64%, para lipídeos de 26 a 31%, e para cinzas de 3,7 a 5,8%, o que demonstra que os resultados obtidos no presente trabalho são condizentes com os da literatura.

Monitoramento do pH durante o processo fermentativo da bebida

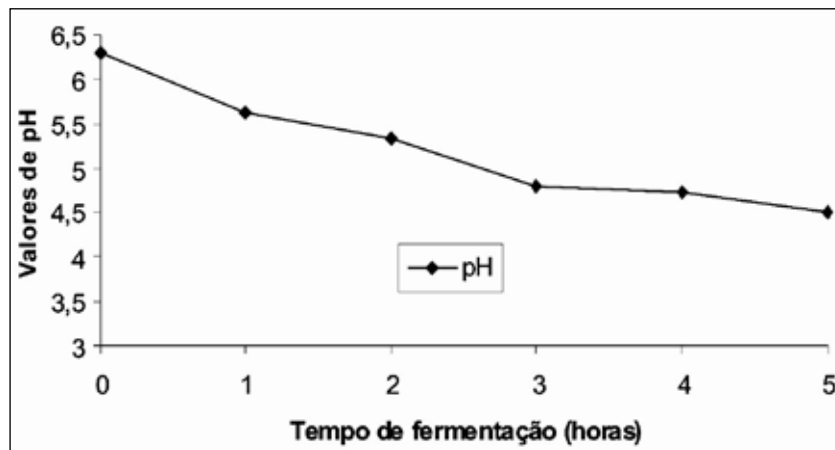
A estabilidade, o aroma, o sabor e a textura dos produtos a base de extrato de soja fermentado dependem do pH. Segundo Granata e Morr (1996), o pH ótimo para este tipo de produto situa-se entre 4,2 e 4,3. Dessa forma, o monitoramento do processo fermentativo foi conduzido até que o pH da amostra atingisse esta faixa. Quando o meio atingiu pH entre 5,3-5,7 foi observado o início da desnaturação das proteínas solúveis do extrato hidrossolúveis de soja através da mudança na consistência

da bebida devido à formação do coágulo, ou seja, o meio passou de um estado líquido para o de gel. Em pH abaixo de 4,0, o produto se torna muito ácido, além de ocorrer a precipitação das proteínas da soja. Por outro lado, um valor de pH acima de 4,5 compromete a conservação do produto e também o seu sabor, uma vez que a melhoria da qualidade sensorial do extrato de soja é obtida pelo efeito mascarante dos produtos de fermentação, especialmente compostos como ácido láctico, acetaldeído e diacetil, sobre os compostos voláteis do extrato de soja, como o n-hexanal, que é o responsável pela nota desagradável de feijão cru, segundo Patel et al. (1980) citado por Silva et al. (2007). A evolução dos valores de pH durante a fermentação do extrato hidrossolúvel de soja está apresentada na figura 2.

Por sua vez, a produção de ácido depende da quantidade de carboidratos que são metabolizados pelas bactérias lácticas. A soja madura contém em torno de 10% de açúcares solúveis do peso seco, e estes são formados por 99%, ou seja, em sua maioria por oligossacarídeos como a rafinose e estaquiiose, além de sacarose, porém em níveis insuficientes para se obter uma boa fermentação (TRUGO et al., 1995; MITAL e STEINKRAUS, 1974). Além disso, os tratamentos empregados na preparação do extrato de soja como a infusão em água e o cozimento reduzem o conteúdo de açúcares fermentescíveis no produto, portanto, sendo necessária a suplementação com lactose, glicose ou sacarose segundo Murti et al. (1993).

A fermentação do extrato de soja pelas bactérias lácticas levou cinco horas

Figura 2. Variação de pH durante o processo fermentativo de cultura láctica do extrato hidrossolúvel de soja com adição de sacarose (2%)



Fonte: Os autores

até atingir o pH desejado. A diminuição do pH durante o processo fermentativo pode ser atribuída à relação simbiótica entre o *S. thermophilus* e o *L. bulgaricus*. O crescimento associado destas duas culturas resulta em menor tempo de coagulação do extrato, maior produção de ácido láctico e um maior desenvolvimento de sabor e aroma no produto (OMOGBAI et al., 2005).

Avaliação sensorial das bebidas fermentadas a partir do extrato hidrossolúvel de soja

As médias dos resultados obtidos na análise sensorial estão mostradas na tabela 2. De acordo com a análise estatística desses dados não houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre as amostras de bebidas adicionadas polpa de abacaxi e limão, porém a bebida fermentada com polpa de ameixa preta apresentou diferença significativa ($P \leq 0,05$) em relação às demais, obtendo menor aceitação pelos julgadores.

Tabela 2. Valores médios do teste de aceitação de bebidas fermentadas saborizadas de extrato hidrossolúvel de soja ⁽¹⁾

| Bebida fermentada com polpa e essência de frutas | Médias atribuídas (pontos) |
|--|----------------------------|
| Abacaxi | 6,66 ^(a) |
| Ameixa preta | 5,58 ^(b) |
| Limão | 6,83 ^(a) |

Nota: ⁽¹⁾Valores obtidos de escala hedônica de sete pontos; médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Fonte: Os autores

Análises físico-químicas das bebidas fermentadas adicionadas de polpa de fruta

As formulações de sabor limão e abacaxi, que obtiveram a melhor aceitação na avaliação sensorial, foram utilizadas para a caracterização físico-química (Tabela 3). Os resultados para umidade foram de 75,43% e 76,79% para as bebidas sabor abacaxi e limão, respectivamente.

Tabela 3. Características físico-químicas das bebidas fermentadas com polpas de frutas

| Componente | Quantidade (g/100g em base seca) | |
|-------------------------|----------------------------------|-------|
| | Abacaxi | Limão |
| Cinzas | 2,93 | 2,76 |
| Acidez titulável | 1,87 | 3,10 |
| Proteína bruta | 7,81 | 7,97 |
| Gordura total | 9,77 | 7,84 |
| Fibra total (alimentar) | 2,56 | 2,02 |
| Carboidratos totais | 61,05 | 66,78 |

Fonte: Os autores

O teor de cinzas das amostras com polpa de frutas apresentou valor próximo ao obtido para o extrato hidrossolúvel de soja não fermentado (Tabela 1). As demais análises variaram de acordo com a adição dos ingredientes em cada amostra.

As bebidas elaboradas neste trabalho, obtidas a partir do extrato hidrossolúvel de soja são classificadas como produtos a base de soja, segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2000).

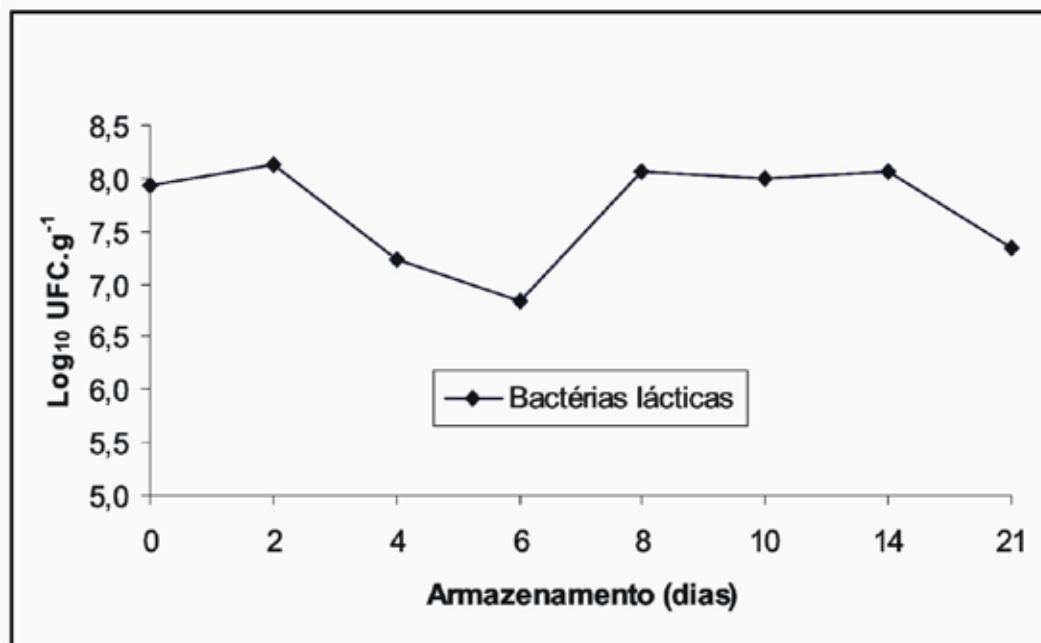
Contagem microbiológica

No ensaio de contagem microbiológica, foi verificada a capacidade de crescimento das linhagens liofilizadas de *L. casei*, *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* em ágar MRS, para contagem de células viáveis. Os resultados experimentais da concentração de células viáveis do extrato hidrossolúvel de soja fermentado, em diferentes tempos de armazenamento a 5° C são apresentados na figura 3.

O desenvolvimento e manutenção da população lática no extrato hidrossolúvel de soja suplementado com 2% de sacarose

comercial demonstraram que este extrato é um excelente meio para o cultivo de bactérias láticas probióticas. O número de colônias viáveis na bebida fermentada armazenada durante 21 dias a temperatura de refrigeração variou de $1,1 \times 10^7$ a $2,0 \times 10^8$ UFC/mL; este valor máximo foi acompanhado do menor valor de pH mensurado na bebida, de 4,2. A manutenção da população de bactérias láticas deve ser no mínimo de 10^6 UFC/mL no produto final, durante todo o prazo de validade, segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas da Instrução Normativa Nº 36, de 31 de outubro de 2000 (BRASIL, 2000). No caso dos probióticos, o produto deve constar à quantidade dos microrganismos viáveis que garantem a ação alegada dentro do prazo de validade do produto, segundo Resolução RDC Nº 2, de 7 de janeiro de 2002 (BRASIL, 2002), portanto, o extrato hidrossolúvel fermentado está de acordo com a legislação quanto a este requisito item. Mc Donough et al. (1982) sugerem a ingestão na ordem de 100 mL, pelo menos, duas vezes por semana, a fim de que os

Figura 3. Evolução do número de bactérias lácticas viáveis durante o período de estocagem a 5° C do extrato hidrossolúvel de soja fermentado



Fonte: Os autores

produtos probióticos consigam exercer sua ação benéfica no organismo.

Conclusão

O estudo da fermentação do extrato hidrossolúvel de soja por culturas lácticas probióticas apresentou bons resultados tanto com relação ao tempo de fermentação de apenas cinco horas, como em termos de aceitação alcançada no produto final. O número de bactérias lácticas viáveis na bebida fermentada de soja armazenado a 5°C manteve-se acima de 10⁷ UFC/mL durante 21 dias, valores que estão de acordo com o exigido pela legislação vigente para produtos probióticos. Além disso, o desenvolvimento e manutenção da população láctica demonstram que o extrato hidrossolúvel de soja suplementado com

2% de sacarose comercial é um excelente meio para o cultivo de bactérias lácticas probióticas.

As bebidas fermentadas de abacaxi e limão obtiveram boa aceitação pelos julgadores mostrando, portanto, potencial de mercado. Os resultados deste estudo demonstraram ser possível melhorar a qualidade sensorial do extrato de soja através de fermentação láctica e adição de polpas de frutas resultando no desenvolvimento de bebidas que obtém boa aceitação pelo consumidor.

O produto desenvolvido neste trabalho vem ao encontro com a demanda crescente dos consumidores por novos produtos funcionais, os quais apresentam os benefícios dos microrganismos probióticos, tais como as bactérias lácticas utilizadas,

e dos componentes prebióticos, como os oligossacarídeos presentes na soja.

O produto desenvolvido também contribui na manutenção do balanço da microbiota intestinal, na redução de problemas intestinais como a má absorção da lactose, na proteção contra

infecções e, portanto, na prevenção de doenças de origem digestivas.

Agradecimentos

Os autores estão gratos a Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO).

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. *Official Methods of Analysis of the AOAC International*. 12th ed. Washington, 1995.

BRASIL, 2000. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas da Instrução Normativa Nº 36, de 31 de outubro de 2000. Disponível em: <<http://anvisa.gov.br>>. Acesso em: 10 jul. 2008.

BRASIL, 2002. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 2, de 7 de janeiro de 2002, que aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde. Disponível em: <<http://anvisa.gov.br>>. Acesso em: 10 jul. 2008.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, n. 18, p. 911-917, 1959.

BOWLES, S.; DEMIATE, I. M. Caracterização físico-química de okara e aplicação em pães do tipo francês. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 3, 2006.

CHOU, C.; HOU, J. Growth of bifidobacteria in soymilk and their survival in the fermented soymilk drink during storage. *International Journal of Food Microbiology*, v. 56, p. 113-121. 2000.

CIABOTTI, S.; BARCELOS, M. F. P.; PINHEIRO, A. C. M.; CLEMENTE, P. R.; LIMA, M. A. C. Características sensoriais e físicas de extratos e tofus de soja comum processada termicamente e livre de lipoxigenase. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, p.643-648, 2007.

DUTCOSKY, S. D. *Análise sensorial de alimentos*. Curitiba: Ed. Universitária Champagnat, 1996. 123 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. *A soja no dia a dia: um brinde a sua vida*. Londrina, PR, 2002. 40p.

GRANATA, L. A.; MORR, C. V. Improved Acid, Flavor and Volatile Compound Production in a High Protein and Fiber Soymilk Yogurt-like Product. *Journal of Food Science*, v. 61, n.2, p. 331–336, 1996.

HASLER, C. M. Functional foods: Their Role in Disease Prevention and Health Promotion. *Food Technology*, v. 52, p. 63-68, 1998.

HOU, J. W.; YU, R. C.; CHOU, C. C. Changes in some componentes of soymilk during fermentation with bifidobacteria. *Food Research International*, v. 33. p. 393-397, 2000.

JACKSON, C. J. C.; DINI, J. P.; LAVANDIER, C.; RUPASINGHE, H. P. V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZELL, D.; De GRANDIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. *Process Biochemistry*, v. 37, p. 1117-1123, 2001.

MATSUBARA, S. Alimentos funcionais: uma tendência que abre perspectivas aos laticínios. *Revista Indústria de Laticínios*, São Paulo, v. 6, n. 34, p. 10-18, 2001.

Mc DONOUGH, F. E.; HITCHINS, A. D.; WONG, N. P. Effects of yougurt and freeze-dried yougurt on growth stimulation of rats. *Journal of Food Science*, v. 47, p. 1463-1465, 1982.

MITAL, B. K.; STEINKRAUS, K. H. Utilization of oligosaccharides by lactic acid bacteria during fermentation of soy milk. *Journal of Food Science*, v. 39, p. 1018-1022, 1974.

MORAES, R. M.; HAJ-ISA, N. M. A.; ALMEIDA, T. C. A.; MORETTI, R. H. Efeito da desodorização nas características sensoriais de extratos hidrossolúveis de soja obtidos por diferentes processos tecnológicos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, p.46-51, 2006.

MORAIS, A. A.; SILVA, A. L. A soja: suas aplicações. Rio de Janeiro: Medsi, 1996. 259 p.

MURTI, T. W.; BOUILLANNE, C.; LANDON, M.; De SMAZEAUD, M. J. Bacterial Growth and Volatile Compounds in Yoghurt-Type Products from Soymilk Containing Bifidobacterium ssp. *Journal of Food Science*, v. 58, p. 153- 157, 1993.

OMOGBAI B. A.; IKENEBOMEH M. J.; OJEABURU S. I. Microbial utilization of stachyose in soymilk yogurt production. *African Journal of Biotechnology*, v. 4, n. 9, p. 905-908, 2005.

RIBEIRO, P. E.; MORAES, C. A. M.; ROIG, M. S. Utilização de misturas de extrato hidrossolúvel de soja com leite de vaca para fabricação de iogurte. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 42, p. 9-14, 1987.

SCALABRINI, P.; ROSSI, M.; SPETTOLI, P.; MATTEUZZI, D. Characterization of *Bifidobacterium* stains for use in soymilk fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, v. 39. p. 213-219, 1998.

SHELEF, L. A; BAHNMILLER, K. R.; ZEMEL, M. B.; MONTE, L. M. Fermentation of soymilk with commercial freeze-dried starter lactic cultures. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 12, p. 187-195, 1988.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N.F.A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela, 1997. 295p.

SILVA, J. B.; PRUDÊNCIO, S. H.; FELBERG, I.; DELIZA, R.; CARRÃO-PANIZZI, M. C. Aceitabilidade de bebidas preparadas a partir de diferentes extratos hidrossolúveis de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 42, p. 1779-1784, 2007.

TAMIME, A.; MARSHALL, V.; ROBINSON, R. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Journal of Dairy Research*, v. 62 p. 151-187, 1995.

TRONCO, V. M. *Manual para inspeção da qualidade do leite*. 2. ed. Santa Maria: UFSM, 1997.

TRUGO, L. C.; FARAH, A.; CABRAL, L. Oligosaccharide distribution in Brazilian soya bean cultivars. *Food Chemistry*, v. 52, n.4, p. 385-387, 1995.

ZANGELMI, A. B. C.; TAGLIOLATTO, M. A.; DIAS, E. L.; LANGE, D. A. *Produtos de soja, leite, farinha e outros: Série Tecnologia Agroindustrial*. São Paulo: Governo do Estado de São Paulo. Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo, p 97-132, 1982.